

Regulation of human autoimmune regulator AIRE gene translation by miR-220b

松尾, 友仁

<https://hdl.handle.net/2324/1441074>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（保健学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）



KYUSHU UNIVERSITY

氏名：松尾 友仁

論文題名： Regulation of human autoimmune regulator (*AIRE*) gene translation by miR-220b (MiR-220b による自己免疫調節 (*AIRE*) 遺伝子の翻訳制御)

区分：甲

論文内容の要旨

【背景】自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外肺葉性ジストロフィー (autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy; APECED) は自己免疫調節 (autoimmune regulator; *AIRE*) 遺伝子の変異により、臓器特異的自己免疫疾患と皮膚粘膜カンジダ症を主徴とする疾患である。*AIRE*は構造から転写因子であることが推定されており、胸腺上皮およびリンパ節に認められることから中枢および末梢の免疫応答制御に重要な役割を果たすことが推測されている。興味深いことに、*AIRE*遺伝子変異を欠くにもかかわらず、APECEDの臨床像を呈する患者がいることが報告されている。さらに皮膚粘膜カンジダ症は末梢免疫における*AIRE*遺伝子の発現異常が関連している可能性がある。そこで、我々はヒト末梢血における*AIRE*遺伝子の発現制御機構として、microRNAによる*AIRE*遺伝子の翻訳制御に着目し、検討を行った。

【方法・結果】

1. IL-2刺激活性化CD4⁺T (IL-2T) 細胞において、*AIRE*遺伝子と*AIRE*蛋白の発現に乖離が認められた。

我々はヒト末梢血において、*AIRE*遺伝子がB細胞、CD4⁺T細胞に発現が認められること、また、EB virus-transformed B (EBV-B)細胞、IL-2T細胞に発現が認められることが報告した。そこで、EBV-B細胞とIL-2T細胞において*AIRE*遺伝子発現をRT-PCRにより、*AIRE*蛋白表出を免疫蛍光染色により検討した。その結果、EBV-B細胞においては*AIRE*遺伝子、*AIRE*蛋白両方の発現が認められた。一方、IL-2T細胞においては*AIRE*遺伝子が強く発現しているにもかかわらず、弱い*AIRE*蛋白の表出が認められた (Fig. 1)。



Fig. 1. IL-2T細胞における*AIRE*遺伝子と*AIRE*蛋白の乖離

2. AIRE遺伝子と作用するmicroRNAの探索。

IL-2T細胞において、AIRE遺伝子発現とAIRE蛋白表出に乖離が認められた原因としてmicroRNAによる翻訳阻害の可能性を考え、検討した。MicroRNAマイクロアレイを用いてIL-2T細胞をEBV-B細胞と比較し、AIRE遺伝子翻訳制御に関わるmicroRNAの検討を行った。その結果、26個のmicroRNAが候補として挙げられた。26の候補microRNAのうち、miRBase (microRNA database) 解析によりhsa-miR-220b (miR-220b) のみがAIRE遺伝子の3'非翻訳領域とペアリングする可能性を見出した (Fig. 2)。

3. MiR-220bにより、AIRE遺伝子は翻訳抑制される。

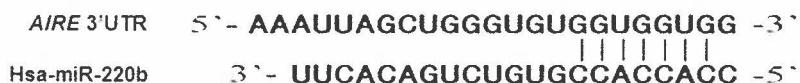


Fig. 2. AIRE遺伝子の3'非翻訳領域とmiR-220bとの推定結合部位

AIRE遺伝子の翻訳が、miR-220bにより制御されるかどうかを検証するために、翻訳領域のみを有するAIRE遺伝子を293T細胞に導入した細胞、3'非翻訳領域を含むAIRE遺伝子を293T細胞に導入した細胞を樹立した。樹立した細胞にmiR-220b発現vectorを導入し、AIRE蛋白の発現変化をwestern blottingにより検討した。その結果、翻訳領域のみを有するAIRE遺伝子を導入した細胞においては、AIRE蛋白の発現変化は認められなかつたが、3'非翻訳領域を含むAIRE遺伝子を導入した細胞においてはAIRE蛋白の著しい発現低下が認められた。さらに、anti-miR-220bの導入により減少していたAIRE蛋白の発現増加を確認した。一方、miR-220bとの推定結合部位に変異を挿入したAIRE遺伝子を導入した細胞においては、AIRE蛋白の発現減少を認めなかつた。 (Fig. 3)。

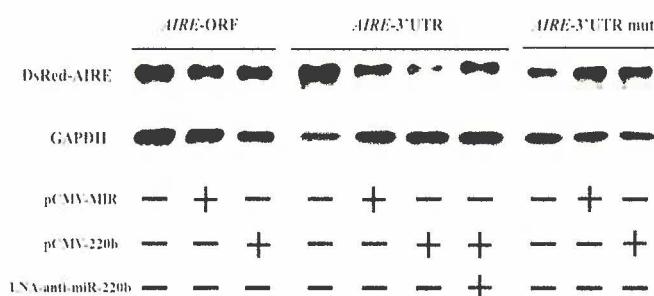


Fig. 3 MiR-220bによる AIRE 遺伝子の翻訳抑制

AIRE-ORF: AIRE 遺伝子の open reading frame のみを導入した 293T 細胞

AIRE-3'UTR: 3'UTR を含む AIRE 遺伝子を導入した 293T 細胞

AIRE-3'UTR mut: miR-220b との結合部位に変異を入れた AIRE 遺伝子を導入した 293T 細胞

pCMV-MIR: control vector

pCMV-220b: miR-220b 過剰発現 vector

【結論】MiR-220bがAIRE遺伝子の3'UTR領域に作用することで、AIRE遺伝子の翻訳を抑制することが示唆された。このことから、AIRE遺伝子変異と同様にmicroRNAによるAIRE遺伝子の翻訳制御が臓器特異的自己免疫疾患、およびカンジダ症に関わるAIRE遺伝子の機能消失の原因となりうる。